

**Der Einfluß des Eiweiß- bzw. Aminosäuregehalts
der Nahrung auf Gewicht, Zellzahl sowie
Desoxyribonukleinsäure-, Ribonukleinsäure-
und Eiweißgehalt der Nieren wachsender weißer Mäuse**

von
Peter Mitznegg
aus Wien

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533916_0024

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. F. Heim

**Der Einfluß des Eiweiß- bzw. Aminosäuregehalts
der Nahrung auf Gewicht, Zellzahl sowie
Desoxyribonukleinsäure-, Ribonukleinsäure-
und Eiweißgehalt der Nieren wachsender weißer Mäuse**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Peter Mitznegg
aus Wien

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. E. Wetterer

Referent: Professor Dr. F. Heim

Tag der mündlichen Prüfung: 21. September 1967

I. Einleitung

Nach heutiger Kenntnis erfolgt die Steuerung der Eiweiß- und Enzymsynthese durch den genetischen Apparat der Zelle. Dieser besteht aus der DNS des Zellkerns, die die sog. genetische Information enthält. Die Art und Menge der zu synthetisierenden Eiweißkörper und Enzyme wird dadurch bestimmt, daß die DNS die jeweilige Information an die Messenger-RNS überträgt. Mit Hilfe des genetischen Codes der Messenger-RNS und einer Transport-RNS werden an den Ribosomen des Zytoplasmas die einzelnen Aminosäuren zu den verschiedensten Peptid- und Eiweißketten verknüpft.

Die Funktion der DNS des Zellkerns wird auf mehreren Wegen gesteuert, u.a. durch bestimmte Hormone, z.B. das Wachstumshormon des Hypophysenvorderlappens, Nebennierenrindenhormone, Insulin, Oestradiol und Testosteron. Letzteres übt einen induktiven Einfluß auf die Eiweißneubildung in der Zelle dadurch aus, daß es vermutlich Repressoren des Zellkerns inaktiviert und dadurch die Bildung von m-RNS an der DNS freigibt. Ein derartiger Vorgang wird heute als Eiweiß- bzw. Enzym-Induktion bezeichnet. Da Testosteron neben anabolen spezifisch androgene Eigenschaften besitzt, wurde in den letzten Jahren versucht, durch Änderungen der Molekularstruktur des Hormons Verbindungen zu schaffen, deren androgene Wirkungskomponente geringer ist, deren anabole Wirkungskomponente dagegen die des Testosterons übertrifft. Solche Verbindungen werden als Anabolica bezeichnet.

Zur Frage, welchen Einfluß die Zusammensetzung der Nahrung auf Wachstum sowie Zellzahl, DNS-, RNS- und Eiweiß-Gehalt der Nieren wachsender weißer Mäuse ausübt, wurden folgende Untersuchungen durchgeführt: In der ersten Versuchsreihe wurde der Einfluß einer eiweißfreien Diät auf Wachstum, Zellzahl sowie DNS-, RNS- und Eiweißneubildung der Nieren weißer Mäuse untersucht. Denn die mit der Nahrung zugeführten Aminosäuren werden nicht nur als Bausteine für den Aufbau der Proteine und Enzyme benötigt; bestimmte Aminosäuren sind an der Synthese der Nukleinsäuren unmittelbar beteiligt. Dies gilt besonders für die Biosynthese der Purinnukleotide. Sie erfolgt an der Ribose-5-Phosphorsäure, an der der Purinring mit Hilfe von aktivierter Ameisensäure, Glykokoll, Asparaginsäure und Glutamin aufgebaut wird. Die spezifische Aufgabe der genannten Aminosäuren bei der Synthese der Nukleinsäuren veranlaßte uns, an eiweißfrei ernährten Tieren den Einfluß dieser drei Säuren in der Nahrung auf die Neubildung von Nukleinsäuren und Eiweiß in den Nierenzellen zu verfolgen.

Da bereits mehrfach beschrieben wurde, daß durch anabole Steroide die Neubildung von DNS, RNS und Eiweiß in den Nieren weißer Mäuse gesteigert wird (8, 11, 23, 24, 25), war es von Interesse festzustellen, inwieweit bei eiweißfreien Tieren die Bildung von Nukleinsäuren und Eiweiß in den Nierenzellen durch ein Anabolicum beeinflußt werden kann. Wir verwendeten hierzu das 17 β -Hydroxy-4 β -chlor-androst-4-en-3-on-17 β -acetat (Steranabol^R).

II. Methodik

Für die Versuche verwendeten wir männliche Mäuse des Inzuchtstammes NMRI. Die Tiere wurden unter konstanten Bedingungen bei einer Raumtemperatur von 24-26°C gehalten. Als unbehandelte Kontrollen erhielten sie Wasser und eine Standardnahrung, die 19,2% Rohprotein, 4% Fett, 5,3% Rohfaser, 10,8% H₂O, 6,5% Asche, 54,2% N-freie Extraktstoffe sowie sämtliche erforderlichen Mineralien und Vitamine enthielt (Altromin^R); Wasser und Nahrung ad libitum.

Alle Versuchsreihen wurden mit Jungtieren bei Eintritt in die Pupertätsphase gestartet. Das Körpergewicht betrug jeweils 16 g, was einem Lebensalter von etwa 25 Tagen entsprach.

Versuchsreihe 1: Der Einfluß eiweißfreier Ernährung auf den wachsenden Organismus, 16 g schwere Normalkontrollen wurden wie oben angegeben ernährt; die Versuchstiere erhielten eine kalorisch vollwertige Spezialdiät mit einem Rohproteingehalt unter 1%. Sie bestand aus 86% Reisstärke, 2% Sojaöl, 4% Zellulosepulver, 6% Mineralstoffmischung sowie einer 2%igen, vollwertigen Vitaminvormischung auf Reisstärke. Wasser und Futter waren ad libitum vorhanden. Der Versuch erstreckte sich über zwei Wochen; zu Beginn und am 2., 4., 6., 8., 10., 12. und 14. Versuchstag wurden bei Kontroll- und Versuchstieren Körper- und Nierengewicht sowie DNS-, RNS- und Eiweißgehalt und die Zellzahl der Nieren bestimmt.

Versuchsreihe 2: Die Restitution nach eiweißfreier Ernährung. In Versuch kamen neben Kontrollen Jungtiere, die 4 Tage lang eiweißfrei gehalten wurden. Am 5. Tag ersetzten wir diese Diät übergangslos durch die Standardnahrung. Kontroll- und Versuchstiere erhielten das jeweilige Futter und Wasser ad libitum. Untersucht wurden beide Tiergruppen nach 4 Tagen, sowie 4 und 8 Tage, nachdem die Versuchstiere wieder normal ernährt wurden. Wir bestimmten neben Körper- und Nierengewicht den Gehalt der Nieren an DNS, RNS, Eiweiß und Zellkernen.

Versuchsreihe 3: Wie oben wurde die Wiederherstellungsphase eiweißfrei ernährter Mäuse beobachtet. Die Versuchstiere erhielten jedoch die eiweißfreie Diät diesmal 8 Tage lang, erst vom 9. Tag an stand die Standardnahrung ad libitum zur Verfügung. 4 und 8 Tage nach Versuchsbeginn sowie 4, 8 und 21 Tage nach Umstellung der Nahrung wurden Körper- und Nierengewicht sowie Zellzahl, DNS, RNS- und Eiweißgehalt der Nieren bestimmt und in Relation zu normal ernährten, gleichalten Kontrolltieren gesetzt. Als Anhaltspunkt für die Normalisierung diente uns dabei das fortlaufend kontrollierte Körpergewicht.

Versuchsreihe 4: Der Einfluß von Aminosäuren bei eiweißfreier Nahrung sowie die Wirkung eines anabolen Steroids bei eiweißfreier und durch Aminosäuren ergänzter Diät auf Körpergewicht, Nierengewicht, Zellzahl und DNS-, RNS- und Eiweißgehalt der Nieren. Der Versuch wurde über eine Woche durchgeführt, die Präparation der Tiere fand am 8. Tag statt. Als Kontrollen dienten hier eiweißfrei ernährte Tiere mit einem Startgewicht von 16 g.

- a) Eine erste gleichalte Versuchsgruppe erhielt eine Diät, die zu 81% der eiweißfreien Nahrung entsprach. 19% des Futters (gleich dem Rohproteingehalt der Standardnahrung) bestanden aus den drei nicht essentiellen, aliphatischen Aminosäuren l-Glutaminsäure (insgesamt 12%), l-Asparaginsäure (insgesamt 6%) und Glykokoll (insgesamt 3%). Die prozentuale Verteilung der Aminosäuren entsprach etwa der dreifachen Menge ihres Vorkommens in Bierhefe (6). Die Standarddiät für Mäuse enthält diese vom Körper synthetisierbaren Aminosäuren nicht.
- b) Einer zweiten Tiergruppe wurde die eiweißfreie Diät der Kontrolltiere verfüttert. Außerdem applizierten wir 2-tägig eine Suspension von 17 β -Hydroxy-4 β -chlor-androst-4-en-3-on-17 β -acetat (wiss. Kurzbezeichnung: Chlortestosteronacetat, Firmenname: Steranabol^R) in einer Dosierung von 0,03 mg pro Gramm Körpergewicht, bezogen auf den Startwert 16 g. Es erfolgten zu Beginn, sowie am 2., 4. und 6. Versuchstag je eine intraperitoneale Injektion.

- c) Der dritten Versuchsgruppe wurde das genannte anabole Steroid in gleicher Weise wie oben verabreicht. Zusätzlich erhielten diese Tiere jedoch die Glykokoll, Asparaginsäure und Glutaminsäure enthaltende, eiweißfreie Mischdiät der Versuchsgruppe a).

Für alle Mäuse waren Futter und Trinkwasser ad libitum vorhanden.

Biochemische Bestimmungen

Die Auftrennung der Nukleinsäuren erfolgte mittels fraktionierter Perchlorsäure-Extraktion, modifiziert nach Ogur und Rosen (20). 0,2 bis 0,3 g Gewebe wurden in 5 ml H_2O bei $4^{\circ}C$ homogenisiert. Anschließend wurden 4% des Homogenats abpipettiert und für die Eiweißbestimmung aufbewahrt.

Der Rest wurde mit der gleichen Menge 0,6 n-Perchlorsäure versetzt, gut gemischt und 10 min. bei $4^{\circ}C$ inkubiert. (Die dabei entstandene 0,3 n-Perchlorsäure eliminierte die säurelöslichen Gewebsanteile). Die weitere Auftrennung erfolgte durch einmaliges Waschen mit Aethanol (80%ig) und zweimalige Extraktion mit Aethanol-Aehter (3:1), je drei Minuten bei $60^{\circ}C$. Der Gewebsrückstand wurde zur Extraktion der RNS mit 1n-Perchlorsäure aufgenommen und bei $4^{\circ}C$ etwa 18 Stunden aufbewahrt. Nach nochmaliger Extraktion des Rückstandes mit kalter 1n-Perchlorsäure wurde die RNS in den vereinigten Überständen am Spektralphotometer (UV-Licht) bei 260 mu in 1 cm Quarzküvetten gemessen.

Aus dem Rückstand erfolgte die Extraktion der DNS. Das Sediment wurde erneut zweimal in 1n-Perchlorsäure aufgeschwemmt, je 30 min. auf $80^{\circ}C$ erhitzt und zentrifugiert. Die beiden Überstände enthielten die DNS, die nun bei einer Wellenlänge von 268 mu bestimmt werden konnte. Die Eichkurven wurden mit in 1n-Perchlorsäure gelöster, reiner DNS bzw. RNS angelegt.

Zur Eiweißbestimmung diente die Biuret-Methode (30) in der von Beisenherz und Mitarbeitern (1) modifizierten Weise.

Außerdem wurde die Gewebsentfettung nach Truckenbrodt (29) eingefügt. Nach Fällung des Eiweißes im oben gewonnenen Homogenat mit 1n-Perchlorsäure und Entfettung mit Aethanol-Aether (3:1) wurde das Sediment in H_2O aufgenommen, mit 5,0 ml Biuretreagenz versetzt und 30 min. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschließend wurde mit H_2O ad 10,0 ml aufgefüllt, gemischt und in 2 cm Glasküvetten bei 546 m μ gegen einen Leerwert gemessen.

Die Eichkurve entstand mit einer standardisierten Proteinlösung (Lab-trol^R).

Bei den biochemischen Analysen wurde zuerst die Konzentration des Untersuchungsstoffes in mg/g bzw. g% bestimmt und der Gesamtgehalt des Organs in mg errechnet. In den Abbildungen wurde jeweils das prozentuale Verhältnis des Gehalts gegenüber dem der Kontrolltiere angegeben; lediglich in Abb. 2 sind die Meßwerte direkt dargestellt.

Zur Bestimmung der Zahl der Zellkerne wurde je eine Niere in 10,0 ml 3%iger Essigsäure mit einigen Tropfen Methylenblau mit dem Homogenisator nach Potter vorsichtig zerkleinert. Die angefärbten Zellkerne wurden in der Zählkammer nach Thoma in 16 Gruppenquadraten ausgezählt. Daraus konnte der Zellgehalt der Niere ermittelt werden.

Statistik

Wir errechneten bei den Versuchsergebnissen jeweils die mittlere Streuung des Mittelwerts (E). In den Abbildungen wurde sie maßstabsgerecht in Prozenten des Kontrollwertes eingezeichnet. Unterschiede zwischen zwei Mittelwerten wurden dann als signifikant angesehen, wenn $P = 0,05$ war.

Die Mittelwerte der Analysen ergaben sich aus 8 bis 14 Einzelbestimmungen.

Um eine Einwaage von ca. 0,3 g zu erreichen, waren bei den Versuchstieren meist 3 bis 4 Nieren erforderlich. Trotzdem konnte durch die Bestimmung der Nukleinsäuren und des Eiweiß aus derselben Analyseneinwaage der Tierverbrauch in Grenzen gehalten werden. Insgesamt wurden etwa 600 Tiere benötigt.

III. Versuchsergebnisse

1. Der Einfluß eiweißfreier Ernährung auf das Körpergewicht, Nierengewicht, Zellzahl der Nieren sowie deren DNS-, RNS- und Eiweißgehalt.

Wie aus Abb. 1 hervorgeht, nimmt das Körpergewicht der eiweißfrei ernährten Tiere während der 14-tägigen Versuchsdauer kontinuierlich ab und liegt nach 2 Wochen um 58,3% unter dem der Kontrolltiere. Noch etwas stärker sinkt das Nierengewicht. Es unterschreitet das der Kontrolltiere nach 14 Tagen um 63,5%. Die Zahl der Nierenzellen ändert sich innerhalb der ersten Versuchswoche nicht und ist in der zweiten Versuchswoche gegenüber der der Kontrollen signifikant erniedrigt. Wie aus Abb. 2 hervorgeht, in der die Absolutwerte des DNS-Gehalts und der Zellzahl pro Niere dargestellt sind, ändert sich bei den 14 Tagen eiweißfrei ernährten Tieren die Zellzahl pro Niere gegenüber dem Startwert nicht. Die prozentuale Abnahme gegenüber den Kontrollen beruht darauf, daß deren Zellzahl zwischen dem 10. bis 14. Versuchstag zunimmt.

Der DNS-Gehalt der Nieren liegt bereits 2 Tage nach Versuchsbeginn signifikant unter dem der Kontrollen. Er hat nach 14 Tagen um 46,9% abgenommen. Auch für die starke prozentuale Abnahme des DNS-Gehalts der Nieren eiweißfrei ernährter Tiere gegenüber den Kontrollen gilt, wie Abb. 2 zeigt, daß diese Abnahme im wesentlichen darauf beruht, daß der DNS-Gehalt in den Nieren der rasch wachsenden Kontrolltiere während der 14-tägigen Versuchszeit gegenüber dem Startwert erheblich, und zwar

um 0,455 mg, zunimmt. Demgegenüber ist die durch den Eiweißentzug hervorgerufene DNS-Abnahme gegenüber dem Startwert - sie beträgt 0,06 mg - sehr gering.

Der Eiweißgehalt ist bereits nach 2 Tagen um 20,5% abgesunken und liegt nach 14 Tagen um 61,2% unter dem der Kontrolltiere; der RNS-Gehalt der Niere ist nach 2 Tagen bereits um 27,5%, nach 14 Tagen um 61,8% gegenüber dem der Kontrolltiere vermindert. Gegenüber den Startwerten tritt ein Verlust an Eiweiß 28,1% und an RNS 38,1% auf.

Mit Ausnahme der Zellzahl ergibt sich also unter eiweißfreier Ernährung eine Abnahme von Körpergewicht, Nierengewicht sowie DNS-, RNS- und Eiweißgehalt der Nieren. Sie beträgt nach 2 Tagen 14-27%, nach 14 Tagen 47-63%.

2. Aus Abb. 3 ergeben sich die Änderungen von Körpergewicht, Nierengewicht sowie der Zellzahl und des Gehalts der Nieren an DNS, RNS und Eiweiß, wenn nach 4 Tagen eiweißfreier Ernährung wieder normales, eiweißreiches Futter angeboten wird. 8 Tage nach Umstellung auf Normalnahrung erreichen Körper- und Nierengewicht sowie DNS- und Eiweißgehalt die Kontrollwerte. Der RNS-Gehalt der Nieren ist bereits 4 Tage nach Zufuhr eiweißreicher Nahrung von dem der Kontrollen nicht mehr signifikant verschieden, obwohl er nach 4 Tagen eiweißfreier Kost mit 39,3% den prozentual größten Abfall aufwies.

3. Die Ergebnisse einer Versuchsreihe, in der die Tiere 8 Tage lang eiweißfrei ernährt wurden und erst vom 9. Tag ab vollwertige Nahrung erhielten, ergeben sich aus Abb. 4. Entspre-

chend dem um 4 Tage verlängerten Eiweißentzug in der Nahrung nahmen Körpergewicht, Nierengewicht, DNS-, RNS- und Eiweißgehalt der Nieren stärker ab als bei obigem Versuch. Das normale, den Kontrolltieren entsprechende Körper- und Nierengewicht wird erst 21 Tage nach Umstellung auf normale Ernährung erreicht. Ebenso lange dauert es, bis DNS-, RNS- und Eiweißgehalt der Nieren wieder dem der Kontrollen entsprechen. Wie aus der Abbildung hervorgeht, erfolgt auch hier die Restitution der RNS am schnellsten.

Im Vergleich zu den Kontrolltieren ist die Zellzahl der Nieren 4 und 8 Tage nach Wiedereinsetzen der Vollkost erniedrigt.

4. Aus Abb. 5 ergeben sich

- a) der Einfluß des Zusatzes von Glykokoll, Asparaginsäure und Glutaminsäure zur eiweißfreien Nahrung,
- b) der Einfluß von Chlortestosteronacetat (Sternabol^R) bei eiweißfreier Diät,
- c) der Einfluß einer Glykokoll-, Asparaginsäure- und Glutaminsäurehaltigen, eiweißfreien Mischnahrung bei gleichzeitiger Verabreichung von Chlortestosteronacetat auf Körpergewicht, Nierengewicht, Zellzahl, sowie DNS-, RNS- und Eiweißgehalt der Niere.

Durch den Zusatz von Aminosäuren, durch Verabreichung von Sternabol^R und bei Kombination beider Maßnahmen ist die Abnahme des Körpergewichts wie bei eiweißfrei ernährten Kontrolltieren. Ebenfalls sind die genannten Maßnahmen ohne Einfluß auf die Zellzahl der Nieren. Die Abnahme des Nierengewichts

und des DNS-, RNS- und Eiweißgehalts der Nieren wird dagegen durch die Zugabe von Aminosäuren signifikant gehemmt. Eine verminderte Abnahme der genannten Größen wurde auch durch die Behandlung mit 17 β -Hydroxy-4 β -chlor-androst-4-en-3-on-17 β -acetat erreicht. Am wirksamsten ist die Kombination beider Maßnahmen, nämlich der Zumischung von Aminosäuren zur Nahrung und Application eines anabolen Steroids. Nach 8 Tagen ist der Verlust des Nierengewichts um 41,4%, des DNS-Gehalts um 20,8%, des Eiweißgehalts um 37,7% und des RNS-Gehalts sogar um 47% geringer als der eiweißfrei ernährter Tiere.

IV. Diskussion der Versuchsergebnisse

1. Unsere Versuchstiere hatten beim Start ein Gewicht von 16 g und ein durchschnittliches Lebensalter von 25 Tagen. Da sie somit gerade in die Pupertätsphase mit gesteigerter Bildung des anabol wirkenden körpereigenen Testosterons eingetreten waren, kam es bei den unbehandelten Kontrollen zu einer starken Wachstumszunahme. Während der zweiwöchigen Versuchsdauer stiegen das Körpergewicht um 49,5%, das Nierengewicht um 77,7%, der Gehalt der Nieren an DNS um 70,5%, an RNS um 62% und an Eiweiß um 85,5% an. Eine gesteigerte Zellneubildung setzte bei den Kontrolltieren ab dem 10. Versuchstag ein, so daß erst am 14. Tag ein signifikanter Unterschied gegenüber dem Startwert erreicht wurde. Daraus ergibt sich, daß der DNS-, RNS- und Eiweißgehalt in den einzelnen Nieren zugenommen hat. Es handelt sich also ganz vorwiegend um eine Zellhypertrophie. Sie ist dadurch zu erklären, daß wir bei weißen Mäusen zwei Wachstumsphasen zu unterscheiden haben: Eine erste von etwa 14 bis 21 Tagen Dauer, in der das Wachstumshormon des Hypophysenvorderlappens Gewebsneubildung und Zellvermehrung gleichermaßen anregt und eine zweite Wachstumsphase, in der das Testosteron vor allem eine gesteigerte RNS- und Eiweißbildung induziert; es steht eine Volumenzunahme der Zelle im Vordergrund, während die Zellneubildung in diesem Entwicklungsabschnitt zurücktritt (29).

Aus den bei den Kontrolltieren während der 14-tägigen Versuchsperiode beobachteten Zunahmen an Körpergewicht, Nieren-

gewicht und DNS-, RNS- und Eiweißgehalt der Nieren erklären sich zum größten Teil die Änderungen im Körpergewicht, Nierengewicht, DNS-, RNS- und Eiweißgehalt bei den eiweißfrei ernährten Tieren, weil sie infolge des Fehlens von Eiweiß in der Nahrung die Wachstumssteigerung der Kontrollen nicht mitmachen können. Darüberhinaus kommt es aber auch zu einer echten Abnahme gegenüber den Startwerten, und zwar des Körpergewichts um 37,5%, des Nierengewichts um 35,2%, des Gehalts der Nieren an DNS um 7,8%, an RNS um 38,1% und Eiweiß um 28,1%.

Da sich die Zahl der Nierenzellen während der ersten 8 Tage eiweißfreier Ernährung gegenüber den Kontrollen nicht ändert und anschließend die Abnahme nur auf der am 10. Tag einsetzenden gesteigerten Zellneubildung in den Nieren der Kontrolltiere beruht, muß der Effekt der eiweißfreien Ernährung hauptsächlich in einer Volumenverminderung der Nierenzellen mit einem Verlust an Makromolekülen - DNS, RNS und Eiweiß - gesehen werden. Aus der Tatsache, daß die Abnahme des DNS-Gehalts pro Zelle geringer ist als diejenige des RNS- und Eiweißgehalts ist ersichtlich, daß die Zellschrumpfung vorwiegend den zytoplasmatischen Raum betrifft.

Die prozentuale Abnahme der DNS in den Zellen eiweißfrei ernährter Tiere beruht im wesentlichen darauf, daß in den Zellen der Kontrolltiere während der 14-tägigen Beobachtungsdauer eine starke DNS-Neubildung stattfindet, die die eiweißfrei ernährten Tiere nicht mitmachen können.

2. Wird nach 4 bzw. 8 Tagen eiweißfreier Ernährung auf Normalkost umgestellt, dann sind die Nieren imstande, die durch den Eiweißmangel bedingte Hemmung im Wachstum, sowie in der DNS-, RNS- und Eiweißbildung aufzuholen, wobei durch die Eiweißzufuhr die Neubildung an RNS am stärksten angeregt wird.

Bei den Tieren, die 8 Tage lang eiweißfreies Futter bekamen und anschließend auf proteinhaltige Kost umgestellt wurden, sinkt die Zellzahl trotz eiweißreicher Kost gegenüber den unbehandelten Kontrollen deshalb ab, weil die letztgenannten in dieser Zeit eine Phase gesteigerter Zellneubildung durchmachen, die bei den Versuchstieren mit einer Verzögerung von 4 Tagen einsetzt. 21 Tage nach Umstellung auf Normalkost entspricht die Zellzahl wieder der der Kontrolltiere.

Es zeigt sich also, daß die Nieren der eiweißfrei ernährten Tiere den physiologischen Wachstumsprozess der normal ernährten Tiere nicht mitmachen können, diesen aber bei Umstellung auf eiweißreiche Normalkost beschleunigt nachholen.

Untersuchungen über den Einfluß eiweißfreier Ernährung auf Körper- und Organgewicht, sowie DNS-, RNS- und Eiweißgehalt sind von mehreren Autoren durchgeführt worden (3, 5, 6, 9, 14, 15, 17, 22, 27, 28, 32). Diese Untersuchungen erfolgten ganz vorwiegend an der Leber weißer Ratten. Nur Mazzanti (18) sowie Jacob, Mandel und Mandel (10, 16) berichten über Beobachtungen an Rattennieren während einer längeren Periode eiweißfreier Ernährung. Letztere sahen eine Abnahme des Körpergewichts um 40 - 45%, des Nierengewichts um 29 - 49% des

Eiweißgehalts um 33 - 52% und des RNS-Gehalts um 46%. Der DNS-Gehalt hat sich nicht geändert. Dagegen finden sie in Pankreas, Nebennieren und Milz neben der Abnahme des RNS- auch eine solche des DNS-Gehalts (17).

3. Die Tatsache, daß die nicht essentiellen Aminosäuren Glycin, Asparaginsäure und Glutaminsäure unmittelbar zur Synthese der Nukleotide, insbesondere der Purinnukleotide benötigt werden, dürfte der Grund dafür sein, daß die Zufütterung dieser Aminosäuren zur eiweißfreien Ernährung zu einer signifikanten Zunahme des DNS-, RNS- und Eiweißgehalts der Nieren führt. Vermutlich ermöglicht das vermehrte Angebot speziell dieser drei Aminosäuren in die Nierenzellen die gesteigerte Neubildung von Nukleinsäuren, mit Hilfe der Nukleinsäuren eine vermehrte Eiweißbildung und durch Aufnahme von kolloid-osmotisch gebundenem Wasser auch eine Zellvergrößerung (8), ohne daß es gleichzeitig zu einer gesteigerten Zellneubildung kommt. Die durch die Zufütterung dieser Aminosäuren ausgelöste Zellhypertrophie beschränkt sich offenbar auf Organe, die infolge ihrer geringen Größe auf das Körpergewicht einen unmaßgeblichen Einfluß ausüben, da das Körpergewicht insgesamt nicht verändert wird.

Busch und Mitarbeiter (2) fanden an Ratten, daß sich durch Zugabe von Glykokoll, Glutaminsäure und Asparaginsäure zu stickstofffreiem Futter die Synthese von RNS und Eiweiß in Leber geringfügig steigern läßt. Im Gegensatz zu unsere Versuchen beobachteten sie aber keine Zunahme der DNS.

4. Beobachtungen von Wijnans und de Groote (31), Leatheim (13) und anderen Autoren weisen darauf hin, daß Testosteronpropionat, Methyltestosteron und weitere anabole Steroide an eiweißfrei ernährten Ratten die Stickstoffbilanz beim Ganztier nicht beeinflussen und eine Gewichtsabnahme nicht verhindern können (4, 26). Dies ist jedoch auf Grund unserer Befunde noch kein Beweis dafür, daß Steroide an eiweißfrei ernährten Tieren ohne anabole Wirkungen sind.

Auch wir beobachteten an den eiweißfrei ernährten weißen Mäusen keinen Einfluß des Chlortestosteronacetats auf das Körpergewicht der Tiere; es müssen sich also die Organe, deren Masse das Körpergewicht maßgeblich bestimmt, gegenüber dem anabolen Steroid refraktär verhalten.

Das Nierengewicht der mit Chlortestosteronacetat behandelten Tiere lag jedoch signifikant über dem eiweißfreier Kontrollen. Außerdem wird durch das anabole Steroid, die durch die eiweißfreie Ernährung hervorgerufene Abnahme des Zellvolumens und des Gehalts der Nierenzellen an DNS, RNS und Eiweiß gehemmt. Die Wirkung des Chlortestosteronacetats konnte durch Zufütterung von Glykokoll, Asparaginsäure und Glutaminsäure zur eiweißfreien Nahrung über den Effekt hinaus, den die Aminosäuren allein hervorriefen, gesteigert werden. Die Wirkung des Steranabol^R speziell auf die Niere hat ihre Ursache darin, daß sich dieses Organ als besonders ansprechbar gegenüber dem Effekt anaboler Steroide erwiesen hat (8, 11, 23, 24, 25). Gerade die Nieren weißer Mäuse sind phylogenetisch und ontogenetisch den Sexualorganen sehr nahestehend, die erfahrungsge-

mäß äußerst empfindlich auf Anabolica reagieren (21). So konnte zum Beispiel durch Testosteron die bei eiweißfreier Diät bei der Ratte auftretende Verkleinerung der Samenblase völlig verhindert werden (12).

Die Wirkung des Chlortestosteronacetats auf die Eiweißsynthese der Nierenzelle beruht sehr wahrscheinlich darauf, daß das anabole Steroid durch Inaktivierung von Repressoren die DNS zu vermehrter Bildung von RNS freigibt (23, 24). Durch die Kombination von Chlortestosteronacetat mit der Zufuhr von Glykokoll, Asparaginsäure und Glutaminsäure wird gleichzeitig das spezifische Substrat angeboten und so eine gesteigerte Neubildung von RNS, Protein und Enzymen ermöglicht.

V. Zusammenfassung

1. An männlichen, in die Pupertätsphase eintretenden weißen Mäusen mit einem Startgewicht von 16 g und einem Alter von etwa 25 Tagen kommt es in den anschließenden 14 Tagen zu einer erheblichen Zunahme des Körpergewichts, des Nierengewichts und des Gehalts der Nieren an DNS, RNS und Eiweiß; wesentlich geringer ist die Zellneubildung. Es ergibt sich aus diesen Befunden eine Volumenzunahme und Vermehrung des DNS-, RNS- und Eiweißgehalts der einzelnen Nierenzelle.

Die Nieren eiweißfrei ernährter Tiere sind nicht imstande, diesen Wachstumsprozess mitzumachen, darüberhinaus treten auch gegenüber den Startwerten Verluste an Körpergewicht, Nierengewicht sowie des Gehalts der Nieren an DNS, RNS und Eiweiß auf. Da sich unter eiweißfreier Ernährung die Zellzahl der Nieren nicht ändert, hat eine solche Diät im wesentlichen eine Verkleinerung der einzelnen Nierenzellen und Abnahme des Gehalts an DNS, RNS und Eiweiß zur Folge.

2. Bereits innerhalb der ersten 4 bzw. 8 Tage nach Ersatz einer 4 bzw. 8 Tage verabreichten eiweißfreien Kost durch Normalnahrung sind die Nieren imstande, das unter der eiweißfreien Diät aufgetretene Defizit an Gewicht, DNS-, RNS und Eiweißgehalt auszugleichen.

3. Da am Aufbau der Nukleinsäuren, speziell der Purinbasen, die Aminosäuren Glykokoll, Asparaginsäure und Glutaminsäure unmittelbar beteiligt sind, ließen sich durch Zufütterung die-

ser Aminosäuren zur eiweißfreien Diät die Abnahme des Nierengewichts und des Gehalts der Nieren an DNS, RNS und Eiweiß signifikant hemmen; die Zufütterung war ohne Einfluß auf die Gesamtzellzahl der Nieren sowie auf das Körpergewicht der Tiere.

Die durch die eiweißfreie Diät hervorgerufene Abnahme des Nierengewichts sowie des Gehalts an DNS, RNS und Eiweiß wird auch durch Verabreichung des Chlortestosteronacetat (Sternabol^R), eines anabolen Steroids, gehemmt.

Die Zufütterung von Glykokoll, Asparaginsäure und Glutaminsäure und die gleichzeitige Applikation von Chlortestosteronacetat führen zu einem über die Wirkung der Einzelmaßnahmen hinausgehenden Effekt.

1. Beisenherz, G., H.J. Boltze, Th. Bücher, R. Czok, K.H. Garbade, E. Meyer-Arendt, G. Pfeleiderer:
Diphosphofructose-Aldolase, Phosphoglyceraldehyd-Dehydrogenase, Milchsäuredehydrogenase, Glycerophosphat-Dehydrogenase und Pyruvatkinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang.
Z. Naturforsch. 8b,555 (1953)
2. Busch, S., J.D. Weill, M. Ledig. P. Mandel:
Effect of the lack of proteins in food of rats on the nucleoside polyphosphates and the biosynthesis of ribonucleic acid (RNA) in the cytoplasmatic liquid of rat liver.
Bull.soc.chim.biol.40,738 (1958)
3. Deifert, S., E. Muntwyler, D.M. Harkness:
Some effects of continued protein deprivation with and without methionine supplementation on intracellular liver components.
Proc.soc.Exptl.Biol.Med. 75,46 (1950)
4. Geiger, E., EL Rawi, I.:
Lack of effect of testosterone propionate on body weight of rats during protein depletion and repletion.
Metabolism 1,145 (1952)
5. Guimaraes Villealo, G.: Nucleic acids of the liver in some experimental conditions.
Grafica Milone Ltda. Rio de Janeiro (1951).
Separata 136
6. Girolamo Di Bendicenti, A., M. Di Girolamo, S. Gaetani, M.A. Spandoni:
Comparison between RNA capable of stimulating amino acid incorporation and early-labeled RNA in rat liver nuclei.
Biochem. Biophys. Acta 114/1, 195 (1966)

7. Harvey, D.:
Tables of the amino acids in food and feedingstuffs.
Commonwealth Agricultural Bureaux, Technical Communication Nr. 19, Farnham Royal (1958)
8. Heim, F., W. Schwarzlose:
DNS-, RNS- und Eiweißneubildung sowie Zellhypertrophie und Zellvermehrung nach 17-Hydroxy-4-chlor-androstenon-17-acetat (Sternabol)
Im Druck
9. Inamdar, B.:
Development of polyploidy in mouse liver.
J. Morphol. 103,65 (1958)
10. Jacob, M., L. Mandel, P. Mandel:
Variations in the ribonucleic acid contents of the kidneys during prolonged protein inanition and during reparation of nitrogen losses.
Compt.rend.soc.biol. 143,1245 (1949)
11. Kochakian, C.D., D.G. Harrison:
Regulation of nucleic acid synthesis by androgens.
Endocrinology 70,99 (1962)
12. Krüskemper, H.L.:
Anabole Steroide
G. Thieme Verl., Stuttgart 1965 S. 54
13. Leatheim, J.:
The influence of nutrition and nutritional status on the effect of androgens and anabolic agents.
Protein Metabolism, Springer Verl. Berlin, Göttingen, Heidelberg 1962. S. 202
14. Mandel, P., L. Mandel, M. Jacob:
Comparison of the two nucleic acids of animal tissue

and their significance in the course of prolonged protein deprivation.

Compt.rend.Acad.sc. 226, 2019 (1948)

15. Mandel, P., M. Jacob, L. Mandel:

On the comparative behaviour of the two nucleic acids of muscle in prolonged inanition and in atrophy by nerve section.

Compt.rend.Acad.sc. 228, 957 (1949)

16. Mandel, P., M. Jacob, L. Mandel:

Metabolism of nucleic acids. I. Effect of prolonged protein starvation on the two nucleic acids of the liver, kidney nad brain.

Bull.soc.chim.biol. 32,80 (1950)

17. Mandel, P., M. Jacob, L. Mandel:

The effect of prolonged protein-fasting on the pentose and deoxypentose nucleic acids of the pancreas and the adrenals.

Compt.rend.Acad.sc. 238, 288 (1954)

18. Mazzanti, L.:

The behavior of nucleic acids in some organs of albino rats exposed to various diets.

Boll.soc.ital.biol.sper. 31.1580 (1955)

19. Muntwyler, E., S. Seifert, D.M. Karkness:

Some effects of restriction of dietary protein on the intracellular components of liver.

J. Biol. Chm. 184,181 (1950)

20. Ogur, M., G. Rosen:

The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of deoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid.

Arch. Biochem. 25, 262 (1950)

21. Overbeek, G.A.:

Anaboe Steroide, Chemie und Pharmakologie.

Springer Verl. Berlin, Heidelberg, New York 1966

S. 5

22. Quirin, C., M. Jacob, P. Mandel:

Relationship between protein content of diet and cellular levels of messenger RNA.

C.R.Acad.Sci. Paris 258,6013 (1964)

23. Schwarzlose, W., F. Heim:

Der Einfluß von Methylandrostenolonacetat auf den Ribonukleinsäure- und Desoxyribonukleinsäuregehalt von Nieren, Muskulatur und Leber weiblicher weißer Mäuse.

Arzneim. Forsch. (Drug-Res.) 15,587 (1965)

24. Schwarzlose, W., F. Heim:

Der Einfluß des 1-Methyl-androsten-Önanthat (Depot-Primobolan) und Actiomycin C auf Gewicht, RNS-, Eiweiß- und DNS-Gehalt der Nieren weiblicher weißer Mäuse.

Arch.int.Pharmacodyn.et.Ther. 164,308 (1966)

25. Schwarzlose, W., H. Truckenbrodt, F. Heim:

Der Einfluß von 1-Methyl-1-androsten-1701-3on-Önanthat auf Größe sowie DNS-, RNS- und Proteingehalt der einzelnen Nierenzellen in Abhängigkeit vom Alter der Tiere.

Im Druck

26. Seda, M., M. Háva:

Mechanism of action of anabolic steroids.

Cs.Fysiol. 11,532 (1962)

27. Stenram, U.:

Interferometric determinations of the ribonucleic acid concentration in liver nucleoli of protein-fed and protein-deprived rats.

Exptl. Cell Research 15,174 (1958)

28. Takahashi, T., Nagahata, K., Oda, T., Suzuku, H., Ishii, K., Tominaga, H., Yamanaka, M.:

Phosphorus metabolism in the liver. III. Altered phosphorus metabolism in the liver of rats fed protein-free diet and on four to seven days fast.

Sogo Igalen 12,395 (1955)

29. Truckenbrodt, H.:

Über das Verhalten von Desoxyribonukleinsäure, Ribonukleinsäure und Eiweiß in der Niere und Leber während des normalen und durch anabole und antianabole Stoffe beeinflussten Wachstums weißer Mäuse.

Im Druck

30. Weichselbaum, T.E.:

Accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma.

Am.J.Clin.Pathol. 10,40 (1946)

31. Wijnans, M., C.A. de Groote:

Contribution to the knowledge of the protein anabolic effect of testosterone propionate.

Acta physiol.pharmacol.neerl. 3,85 (1953)

32. Williams, J.N. Jr.:

Response of the liver to prolonged protein depletion.

I. Liver weight, nitrogen and deoxyribonucleic acid.

J.Nutr. 73,199 (1961)

L e g e n d e n

- Abb. 1: Körpergewicht, Organgewicht, Zellzahl und Gehalt an DNS, RNS und Eiweiß der Nieren männlicher weißer Mäuse während 14 Tage eiweißfreier Ernährung. Änderungen in % gegenüber normal ernährten Kontrollen.
- Abb. 2: Absolutwerte des DNS-Gehalts und der Zellzahl der Nieren männlicher weißer Mäuse während 14 Tage eiweißfreier Ernährung. Kontrolle: ausgezogene Linie. Versuchstiere: gestrichelte Linie.
- Abb. 3: Körpergewicht, Organgewicht, Zellzahl und Gehalt an DNS, RNS und Eiweiß der Nieren männlicher weißer Mäuse in der Restitutionsphase nach 4-tägiger eiweißfreier Ernährung. Änderungen in % gegenüber normal ernährten, wachsenden Kontrollen.
- Abb. 4: Körpergewicht, Organgewicht, Zellzahl und Gehalt an DNS, RNS und Eiweiß der Nieren männlicher weißer Mäuse in der Restitutionsphase nach 8-tägiger eiweißfreier Ernährung. Änderungen in % gegenüber normal ernährten, wachsenden Kontrollen.
- Abb. 5: Körpergewicht, Organgewicht, Zellzahl und Gehalt an DNS, RNS und Eiweiß der Nieren männlicher weißer Mäuse unter eiweißfreier Ernährung bei Zufütterung von Aminosäuren (a), Behandlung mit Chlortestosteronacetat (b) und Kombination beider Maßnahmen (c). Änderungen in % gegenüber eiweißfrei ernährten Kontrollen.

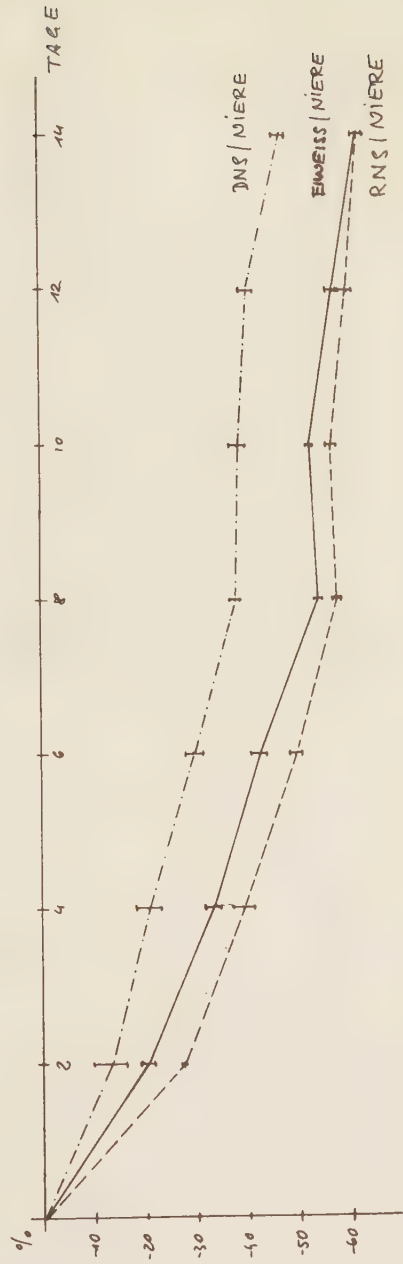
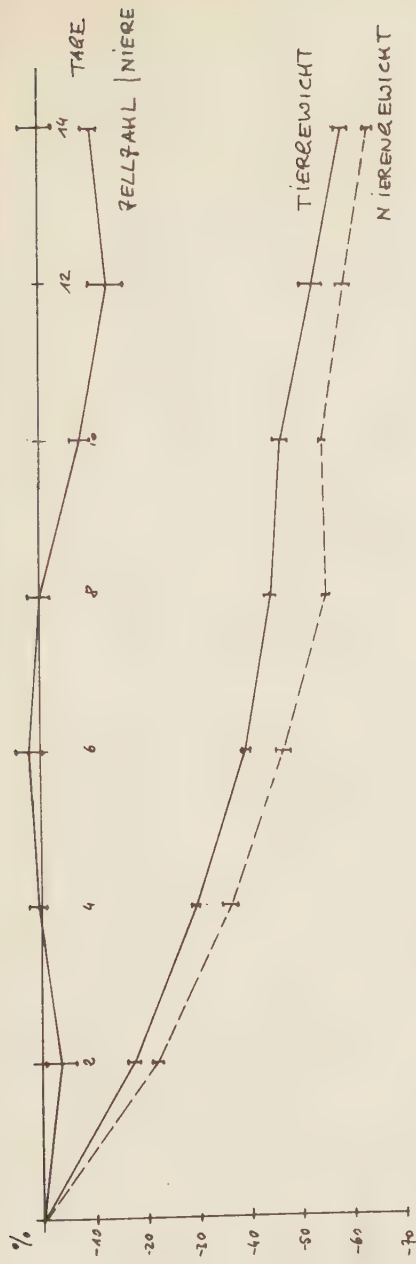


Abb. 1

mg DNS / NIERE

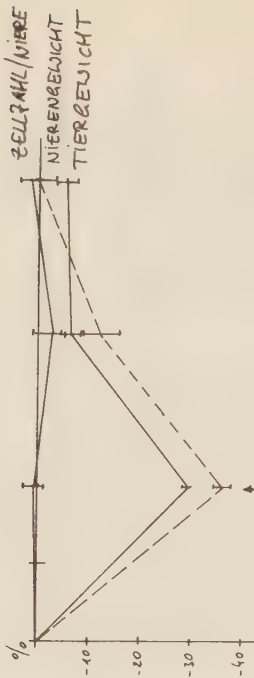


$\times 10^8$ ZELLZAHL / NIERE



Abb. 2

o = significant



R

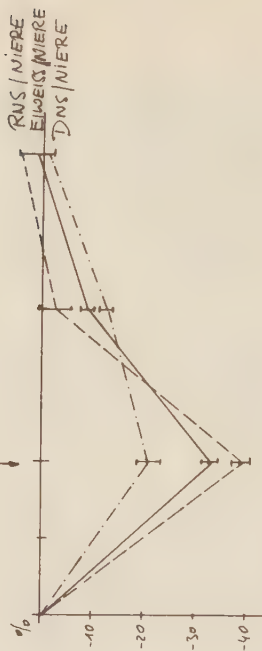


Abb. 3

8 = 4/4 12 = 4/8 TAGE

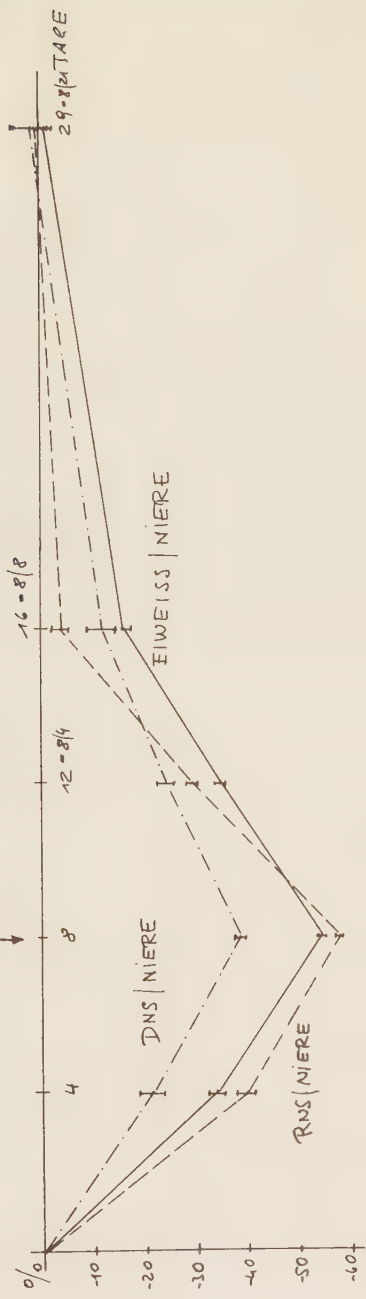
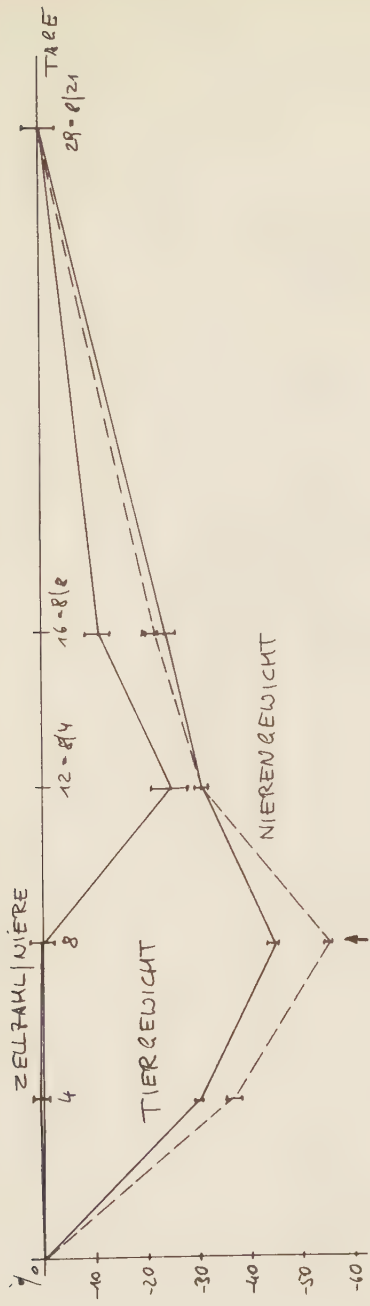
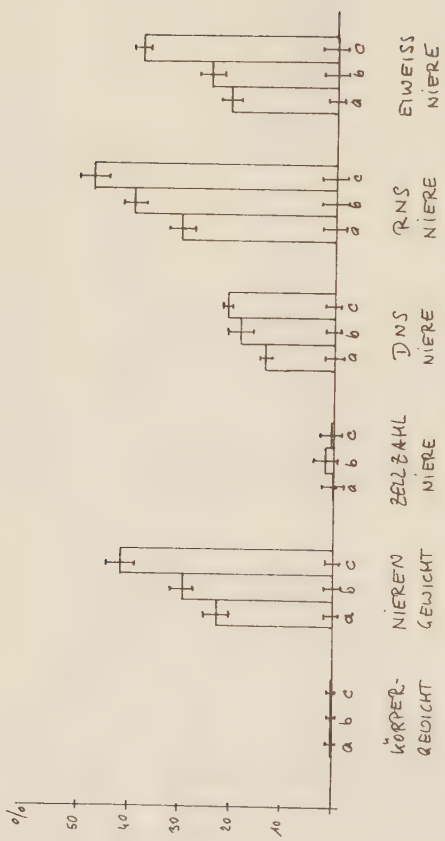


Abb. 4



a = GLUTAMINSÄURE, ASPARAGINSÄURE, GLUKOKOLL
 b = CHLORTESTOSTERON ACETAT
 c = KOMBINATION a+b

Abb. 5

Herrn Prof. Dr. med. F. H e i m
danke ich für die Überlassung des
Themas und die wohlwollende Unter-
stützung bei der Durchführung der
Arbeit.

Lebenslauf

Ich, Peter Mitznegg, wurde am 21. August 1940 als Sohn des Regisseurs Alois Mitznegg und seiner Ehefrau, der Opernsängerin Gertrude Mitznegg in Wien geboren.

Dort verbrachte ich die Kindheit bis zum Abschluß der Volksschule. 1950 übersiedelte unsere Familie nach Nürnberg. Hier besuchte ich bis zur Reifeprüfung im Jahre 1960 die Oberrealschule an der Löbleinstraße.

Im Wintersemester 1960/61 wurde ich an der Universität Erlangen-Nürnberg für das Fach Medizin immatrikuliert, wo ich 1962 die ärztliche Vorprüfung und im Sommer 1966 die ärztliche Prüfung bestand.

Seither war ich an der Medizinischen Poliklinik und am Pharmakologischen Institut der Universität Erlangen beschäftigt.

Offsetdruck - Fotodruck

Josef Hogl

8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz,) Tel. 22990

Offsetdruck - Fotodruck

- J. Hög, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Telefon 22990 -